

사람세포거대바이러스 (Human Cytomegalovirus)의 극초기항원-1 (Immediate Early-1, IE-1)에 반응하는 *c-jun* Promoter의 유전자 지도 분석

서울대학교 의과대학 미생물학교실¹, 서울대학교 감염병연구소³,
성균관대학교 의과대학 미생물학 및 면역학교실²

박정규^{1,3} · 한태희² · 김대중¹ · 김진희¹ · 황응수^{1,3} · 최성배¹ · 차창룡^{1,3*}

=Abstract=

Mapping of Human Cytomegalovirus IE1 Responsive Elements in the *c-jun* Promoter

Chung-Gyu Park^{1,3}, Tae-Hee Han², Dae-Joong Kim¹, Jin-Hee Kim¹,
Eung-Soo Hwang^{1,3}, Sung-Bae Choi¹ and Chang-Yong Cha^{1,3*}

Department of Microbiology, Seoul National University College of Medicine,
Seoul, Korea, 110-799¹, Institute of Endemic Disease, Seoul National University,
Seoul, Korea, 110-799³, Department of Microbiology and Immunology,
Sung Kyun Kwan University College of Medicine, Suwon, Korea, 440-746²

Human cytomegalovirus (HCMV) has the ability to activate the expression of many viral and cellular genes. Among various viral proteins, the immediate early proteins (IE1-72kDa, IE2-86kDa) have been known to be potent transactivators. The product of *c-jun* proto-oncogene is important in cell activation and differentiation. Here, we tried to find out if the IE could activate the *c-jun* promoter and also tried to identify the responsible sequence elements in the *c-jun* activation by IE1-72kDa.

We found HCMV IE expression transactivated the *c-jun* promoter in human embryonal lung fibroblasts (HEL). The activation fold by IE1-72kDa, IE2-86kDa and IE2-55kDa was 23, 35, and 5, respectively. When the expression of each IE was combined, it showed synergism. Expression of (IE1-72kDa + IE2-86kDa) and (IE1-72kDa + IE2-86kDa + IE2-55kDa) resulted in 131 and 162 fold increase, respectively.

The *c-jun* promoter region between -117 and -59 contains binding sites for the transcription factors Sp1, CAAT, AP-1 like (ATF/CREB), and MEF2. Transient expression assays were performed using various reporter plasmids containing the *c-jun* promoter-regulatory region linked to the luciferase gene and a plasmid expressing HCMV IE1 gene. Deletional and point mutational analysis showed that the sequence between -225 to -160 and the CTF binding site were involved in the up-regulation of *c-jun* promoter.

Key Words: HCMV, Immediate early protein1, *c-jun* promoter, CTF

접수 : 1998년 9월 18일

*Corresponding author: Chang-Yong Cha, Department of Microbiology, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea, 110-799, Institute of Endemic Disease, National University, Seoul, Korea, 110-799

서 론

사람세포거대바이러스 (Human cytomegalovirus, 이하 'HCMV'라 함)에 의한 인체감염은 대부분 불현감염이지만 면역계가 미숙하거나 억제되어 있는 환자에서 심각하고 치명적인 질병을 초래할 수 있다. 태아와 신생아에서 사산, 정신지체, 청각장애 등을 유발할 수 있으며 신장이식이나 골수이식 환자에서 폐렴, 이식장기의 거부반응 등이 일어날 수 있고 후천성면역결핍증 환자에서도 망막염증 및 전신 감염증이 발생할 수 있다. 동맥경화와 암과의 관련성도 연구되고 있다 [19,24,13,20,7,23]. 향후 장기이식의 증가와 후천성면역결핍증의 증가를 감안하면 HCMV감염의 중요성이 더 커질 것으로 생각된다.

HCMV로 인한 인체의 질병을 이해하고 예방과 치료를 하기 위해서는 HCMV의 생물학적 특성과 조절 기전을 규명하는 것이 기초가 된다. 특히 HCMV는 다른 바이러스와는 달리 감염시킨 숙주세포의 여러 가지 유전자를 활성화시킨다. 여기에는 대부분 다른 유전자 발현의 조절에 관여하며 특히 세포 주기의 조절에 관련된다고 알려져 있는 *c-fos*, *c-myc*, *c-jun* 등과 같은 암유전자와 *hsp70* 등이 포함된다 [10,9,6,5,4,2]. *c-fos*, *c-myc*, *c-jun*, *hsp70* 등이 암이나 세포의 과다 증식에 의한 질환, 혹은 apoptosis와 관련된 여러 가지 질환에 직접적으로 관계하는 중요한 유전자임을 고려할 때 HCMV에 의한 위와 같은 유전자들의 활성화 기전은 반드시 밝혀져야만 할 것이다.

HCMV의 유전자와 mRNA 및 단백질은 유전자가 발현되는 시간순서에 따라 immediate early (IE), early (E), late (L)의 3가지로 나뉜다 [15,28,27]. IE 단백질은 바이러스 DNA에서 최초로 만들어지는 단백질로서 바이러스 특이 단백질 발현 및 합성을 유도할 뿐 아니라 숙주세포의 생합성 과정을 통제하는 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, HCMV의 감염에 의한 *c-fos*, *c-myc*, *hsp70* 등과 같은 유전자의 activation은 바로 IE 단백질이 각 암유전자의 promoter에 작용하여 전사과정을 활성화시킴으로써 일어나는 것으로 알려져 있다 [5,4]. 그러나 중요한 암유전자 중의 하나인 *c-jun*의 HCMV에 의한 activation 기전에 대해서는 밝혀져 있지 않다.

HCMV의 주요 IE 단백질은 크게 IE1과 IE2로

나눌 수 있다. 두 항원 모두 0.66~0.77 map unit 사이에서 만들어지나 그 기능은 다른 것으로 알려져 있다. IE2는 다른 여러 가지 유전자를 activation시키나 자신의 유전자는 억제시키는 기능을 가지고 있으며 [17,16,18] IE1은 IE2에 의하여 activation되지 않는 구조가 다른 유전자 promoter를 상보적으로 활성화시키고 자신의 유전자 활성을 억제시키지는 않는다 [14,22].

본 연구에서는 사람세포거대바이러스의 극초기항원들이 *c-jun* promoter를 활성화시킬 수 있는지, 있다면 그 중 IE1 72kDa 항원이 *c-jun* promoter를 활성화시키는 기전을 밝히기 위해 co-transfection assay를 통한 *c-jun* promoter 유전자 지도 분석을 시도하였다.

재료 및 방법

1. 바이러스와 세포

사람 폐섬유아세포를 10% 우태아혈청이 포함된 Eagle's essential medium (MEM)에 3일에 한 번씩 계대 배양하였다. U-937 세포는 우태아혈청이 10% 들어있는 RPMI-1640배지에 3일에 한 번씩 계대 배양하였다. 바이러스는 HCMV AD169 실험실주를 사용하였다. 바이러스는 아래의 방법으로 생산하였다. 플라스크에 가득 자란 사람 폐섬유아세포에 moi가 0.1에 되게 얼려둔 바이러스 stock을 접종하고 37°C에서 90분간 흡착시킨 후 배양하였다. 90%의 cytopathic effect (CPE)가 보이면 상청액을 수거하여 sucrose density gradient를 이용하여 바이러스를 순수분리하였다. 방법을 간략히 설명하면 SW41 rotor tube (Beckman Co.)에 0.5M sucrose를 분주하고 그 위에 세포 찌꺼기를 제거한 바이러스 상청액을 중첩하였다. 실온에서 30K, 90분간 원심침전시킨 후 pellet을 우태아혈청이 포함되지 않은 MEM에 부유하여 실험에 사용하였다. 모든 실험에 사용한 바이러스 접종은 m.o.i.가 2가 되게 접종하였다.

2. 플라스미드와 DNA 절편

HCMV의 IE1-72kDa, IE2-86kDa, IE2-55kDa을 진핵세포에서 표현할 수 있는 vector로 pCDNAIE1-72, pCDNAIE2-86, pCDNAIE2-55를 사용하였다. *c-jun* promoter reporter gene의 제작을 위해 pJC6 [12]을 사용하였다. pJC6은 *c-jun* promoter의 -225으로부터 +150까지의 sequence가 bacterial chloram-

phenicol acetyltransferase gene coding sequence와 접합되어 있으며 본 교실에서 보유하고 있다. 실험에 사용된 report plasmid인 pJLuc은 luciferase 유전자의 위쪽에 설치류 *c-jun* promoter의 -225에서 +150이 포함되어 있고 pOFLuc은 luciferase 유전자의 위쪽에 -53에서 +42의 *c-fos* basal promoter가 포함되어 있다. pJLuc의 deletion mutant인 pJ7Luc, pJ8Luc, pJ9Luc은 pJC7, pJC8, pJC9으로부터 제작되었다. *c-jun* promoter의 MEF2와 ATF/CREB site의 point mutant인 pJ9TxLuc, pJ9STxLuc은 pJC9Tx, pJC9STx로부터 제작되었다 [12]. 각 mutant plasmid의 구조는 Figure 3에 표시하였다.

3. 세포배양 및 transfection

사람 폐섬유아세포를 10% 우태아혈청이 포함된 MEM으로 1×10^6 cells/ml로 키운 다음 transfection 하루 전날 새로운 배지로 지름 60mm 배양접시에 5×10^5 cells/plate로 맞추었다. 2 μ g의 reporter plasmid, 2 μ g의 internal plasmid, 1 μ g의 IE1-72kDa expression vector를 0.3ml의 OPTI-MEM으로 부유하고 10 μ l의 Lipofectamine (Gibco, BRL)을 동량의 OPTI-MEM으로 부유한 후 제품의 매뉴얼에 따라 처리하였다. 48시간 후 배지를 제거하고 PBS로 2회 세척한 후 Luciferase lysis buffer 0.25ml을 가하여 세포를 추출하였다. 추출액은 12,500rpm, 4 $^{\circ}$ C에서 2분간 원침하고 상청액을 취하여 -80 $^{\circ}$ C에 얼려서 보관하며 세포추출액으로 사용하였다.

4. Western blot analysis과 Chemiluminescent staining

Transfection된 세포에서 IE-1 72kDa 항원이 표현되는지를 western blot으로 확인하였다. 세포추출액 10 μ l를 loading buffer와 혼합하여 10% acrylamide gel상에 분리하였다. 분리된 단백 분획을 nitrocellulose membrane에 옮기고 5% skim milk가 함유된 PBS로 여백을 차단하였다. 1차 항체로는 anti-IE1-72kDa monoclonal antibody로 1시간 반응시키고 PBS-Tween용액으로 3회 세척하였다. 2차 항체는 peroxidase conjugated anti-mouse IgG를 1시간동안 반응시켰다. PBS-Tween용액으로 4회 세척하고 암실에서 chemiluminescent reagent (Amersham)를 가하고 5~30초간 X-ray film에 감광시켰다.

5. Beta-galactosidase assay

세포추출액 50 μ l당 800 μ l의 Z buffer (0.1M Tris-

Cl, pH 8.0, 100mM KCl, 1mM MgSO₄, 0.35% beta-mercaptoethanol)와 160 μ l의 ONPG (4mg/ml in 0.1M Tris-Cl, pH 8.0)를 가하였다. Z buffer-ONPG mixture를 가한 다음 37 $^{\circ}$ C에서 노란색이 나타날 때까지 반응시켰다. 400 μ l의 1M Na₂CO₃를 가하여 반응을 중지시킨 후 420nm에서 흡광도를 측정하였다.

6. Luciferase assay

세포추출액 20 μ l와 Luciferase reagent (Promega) 100 μ l를 혼합한 후 5초 후 Luminometer (TD-20/20, Turner Designs)에서 발광양을 측정하였다. 결과는 control vector를 transfection했을 때 luciferase activity를 1로 했을 때 효과를 보고자 하는 단백질원을 표현하는 vector를 transfection했을 때의 luciferase의 activity가 몇 배 증가하였는지를 나타내었다.

결 과

1. HCMV IE 단백질원의 *c-jun* promoter 활성화

첫 번째 단계로 IE 단백질원의 expression vector를 transfection시켰을 때 IE 항원이 표현되는지의 여부를 western blot analysis를 통해서 확인하였다.

각 IE 단백질원의 expression vector는 각각의 IE 단백질원의 c-DNA가 클로닝된 pCDNAIE1-72kDa, pCDNAIE2-86kDa, pCDNAIE2-55kDa을 사용하였다. 10% SDS-PAGE gel에서 transfection된 U-937세포추출액의 단백질원을 분리시키고 electro-transfer를 통하여 이를 nitrocellulose membrane에 전사한 후 IE1, IE2에 대한 단세포항체를 이용한 chemiluminescent system으로 염색하였다. Figure 1의 각 lane 1은 pCDNAIE1-72kDa을 transfection시킨 세포추출물이며 lane 2는 pCDNAIE2-86 kDa를 transfection시킨 세포추출물이고 panel (A)는 anti-IE1 monoclonal Ab를 반응시켰고 panel (B)는 anti-IE2 monoclonal Ab를 반응시켰다. Panel (A)에서는 72 kDa 항원이 Panel (B)에서는 84kDa에 해당하는 밴드를 관찰할 수 있었다.

Transient transfection assay를 이용하여 HCMV의 IE 단백질원이 *c-jun* promoter를 직접 활성화하는지를 알아보았다. IE expression vector 대신 빈 vector를 사용했을 때의 luciferase 활성도를 1이라 했을 때 IE1-72kDa 항원이 단독으로 표현되었을 때

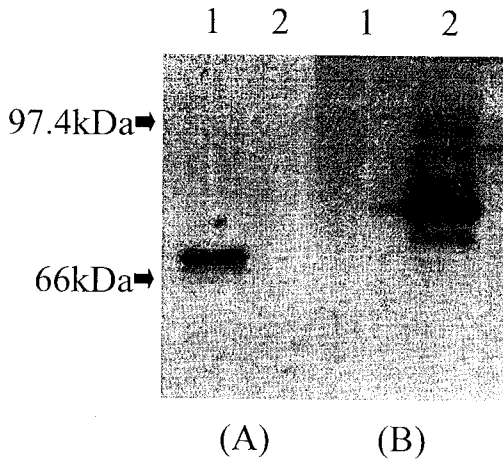


Figure 1. Western blot analysis of U-937 cells transfected with pCDNAIE1-72kDa (lane 1) and pCDNAIE2-86kDa (lane 2). U-937 cells were transfected with each plasmid described as Materials and Methods. Cellular extracts of transfected cells were subjected to 10% SDS-PAGE and transferred to Nitrocellulose membrane. The membrane was probed with (A): anti-IE1 or (B): anti-IE2 monoclonal Ab. The reactive bands were visualized by chemiluminescent system.

c-jun promoter의 활성도는 23배 증가하였고, IE2-86kDa의 경우 35배, IE2-55kDa의 경우 5배 증가하였다. IE1-72kDa과 IE2-86kDa를 혼합하여 표현했을 경우 130배 활성도의 증가를 보여 IE1, IE2가 같이 작용할 경우 *c-jun* promoter 활성도의 증가는 각각의 증가된 활성도의 합보다 커서 IE1과 IE2의 *c-jun* promoter 활성화는 synergism을 보인다는 사실을 확인할 수 있었다 (Fig. 2). IE1-72kDa, IE2-86kDa, IE2-55kDa이 같이 작용했을 경우에도 역시 synergism을 보여 160배의 활성도 증가를 보였다. 이상의 결과로 HCMV의 IE 단백질들은 직접 *c-jun* promoter를 활성화시키고 각각의 단백질들은 서로 synergism을 보인다는 사실을 확인하였다.

2. IE1-72kDa 단백질항원에 의해 활성화되는 *c-jun* promoter의 유전자 지도 작성

본 실험에서 사용한 *c-jun* promoter reporter vector는 luciferase 유전자의 upstream에 -225에서 +150 사이의 murine *c-jun* promoter가 클로닝되어 있다. 지금까지 알려진 주요 functional motif로 SP1, CTF, ATF/MEF2 binding site가 있으며 TA-

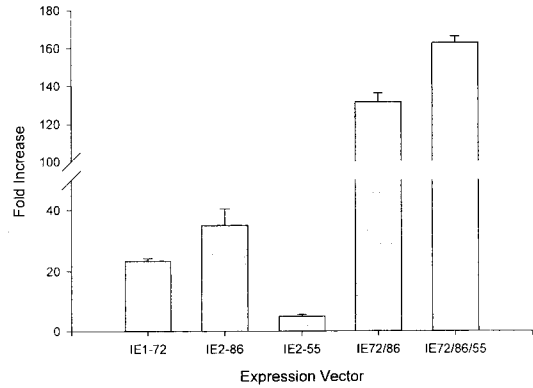


Figure 2. HCMV IE proteins synergistically transactivated the *c-jun* promoter. The murine *c-jun* promoter encompassing -225 to +150 upstream of luciferase reporter vector was co-transfected in the HEL cell along with IE protein expression vector as described in materials and methods. The fold increase represent the fold of luciferase activity compared to that when the empty vector was transfected instead of IE expression vector. Values shown are the averages of at least two separate experiments done in duplicate \pm standard errors of the means.

TAA box 대신에 두 개의 GATAA box가 존재한다 (Figure 3). *c-jun*의 활성화는 아주 짧은 시간에 일어나므로 reporter vector의 promoter에 의해 생산되는 산물도 half life가 짧은 것이 좋다. Chloramphenicol acetyl transferase의 activity는 luciferase 보다 길므로 pJC6를 이용하여 재료 및 방법에서 서술한대로 각각의 deletion mutant를 제작하였다. 제작된 mutant는 sequencing을 통하여 sequence를 확인한 후 사용하였다.

HCMV IE1-72kDa에 의한 *c-jun* promoter의 활성화에 관계하는 sequence elements를 찾아내기 위해 여러 종류의 deletion mutant를 사용하여 luciferase assay를 시행하였다. Figure 3에 나타난 바와 같이 -225에서 -160사이를 deletion한 pJ7Luc은 평균 2배의 활성도를 보였는데 이는 wild type인 pJLuc이 IE1에 의하여 19.8배의 활성도가 증가한데 비하면 90%의 활성도가 감소한 것이다. -225에서 -115사이를 deletion한 pJ8Luc은 SP1 binding site가 inactivation 된 것인데 활성도의 증가는 약 7.3배 정도를 보였다. 이는 pJLuc에 비해서 활성도의 증가가 60% 감소한 것이나 pJ7Luc에 비해서는 오히려 3배 정도 증가한 것이다. pJ9Luc은 SP1 및 CTF binding site가 inactivation된 promoter인데 basal level (pCDNAIE1-72kDa vector 대신 IE1이 표

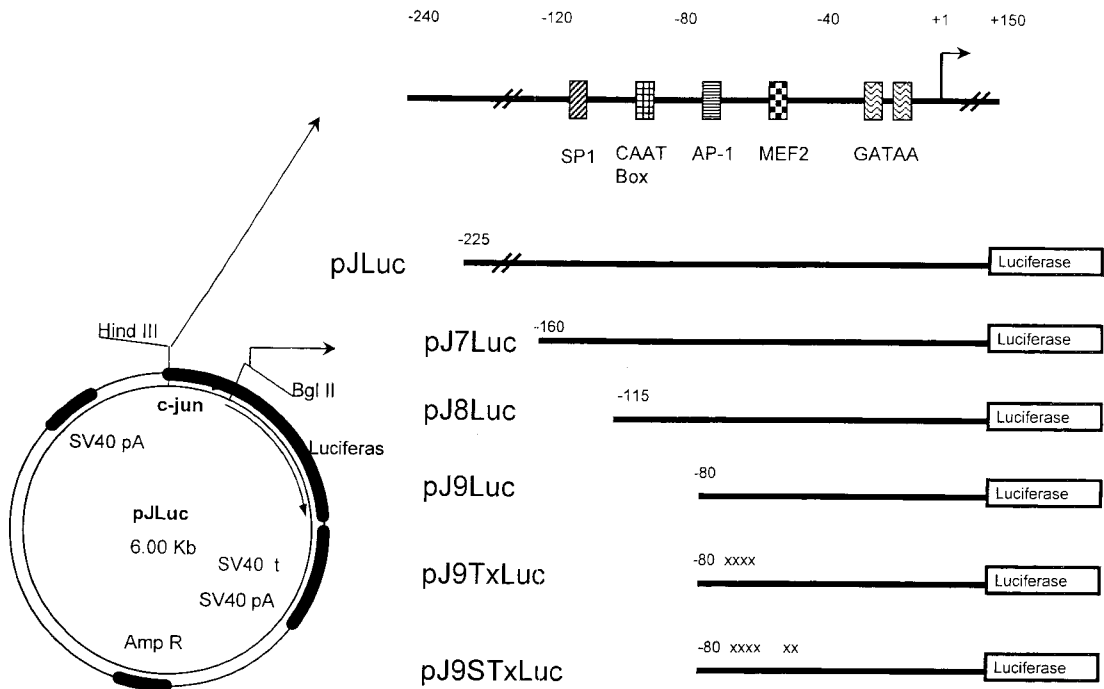


Figure 3. *c-jun* promoter constructs. The positions of binding sites for the transcription factors SP1, CTF, ATF/CREB and MEFII at -117, -92, -72, and -59, respectively, in the *c-jun* promoter are indicated. Plasmid pJLuc contains -225 to +150 of the murine *c-jun* promoter upstream of luciferase gene. The position of deletions in pJ7Luc, pJ8Luc, and pJ9Luc are indicated. Point mutations in the ATF/CREB or MEFII sites in pJ9TxLuc and pJ9StxLuc are indicated by X's.

현되지 않는 pCDNA3 빈 vector가 포함된 DNA mixture가 transfection 된 것)에 비해 1.94배의 활성도 증가를 보였다. pJ9TxLuc은 ATF/CREB binding site가 inactivation 된 것이며 pL9STxLuc은 현재 알려진 functional motif가 모두 inactivation되고 basal promoter element로 생각되는 부분만 존재하는 construct인데 두 가지 모두 활성도의 증가를 보이지 않았다. 위의 결과를 종합해 볼 때 IE1에 의한 활성화에 관계하는 *c-jun* promoter sequence elements는 지금까지 알려지지 않은 -225에서 -160 사이인 것과 효과는 -225와 -160사이의 sequence element보다는 약하지만 CTF binding site도 관계한다는 사실을 확인하였다.

고찰

본 연구에서는 사람세포거대바이러스의 극초기항원에 의해서 *c-jun* promoter가 활성화된다는 사실과 IE1에 의한 *c-jun* promoter의 활성화에는 -225에서 -160사이의 sequence element와 tentative

CTF binding site가 관계한다는 사실을 밝혔다.

허용성을 가진 세포가 사람세포거대바이러스에 감염되면 *c-jun* 전사량이 증가하여 감염 후 60분에 최대에 달하고 90분에 정상으로 회복된다는 사실은 이미 오래 전에 보고되었다 [2]. 바이러스가 세포와 접촉함으로써 증가되는 원형 암유전자는 이외에도 *c-fos*, *c-myc* 등이 있으며 [11] 이러한 원형 암유전자의 증가는 signal transduction pathway의 활성화를 통하여 이루어진다 [1]. 증가된 *c-jun*, *c-fos* 원형 암유전자는 AP-1을 형성하여 세포내의 분열, 증식, 분화 등에 관여하는 유전자를 활성화시킨다. 감염 초기에 증가된 원형 암유전자는 바이러스의 증식에 중요한 역할을 할 것으로 알려져 있다 [21,26].

여러 연구를 통하여 사람세포거대바이러스가 종양의 발생과 직접 혹은 간접적으로 관계 있으며 시험관내에서 세포를 형질변환시킨다는 사실이 알려져 있다 [7]. HCMV의 단백질항원 중 감염 극초기에 생산되는 IE 항원은 자기 자신과 다른 여러 가지 종류의 promoter를 활성화시킨다고 보

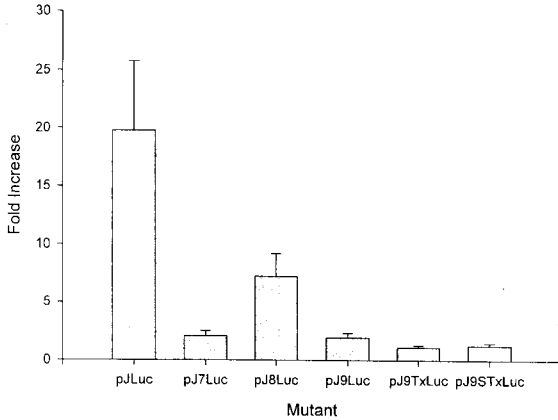


Figure 4. The sequence of -225 to -160 and CTF sites are required for IE1 induction of the *c-jun* promoter. HEL cells were transiently transfected with the *c-jun* luciferase reporter plasmids, as indicated and pCDNA3- β -galactosidase as an internal control. After transfection, the cells were serum starved for 48 hr. Cell lysates were prepared for luciferase and β galactosidase assays. The fold increase of luciferase activity in IE expressed cells relative to empty vector expressed cells is shown. Values shown are the averages of at least two separate experiments done in duplicate \pm standard errors of the means.

고되고 있다 [3,8]. IE 항원은 감염 후 30분 내지 1시간 후에 만들어지기 시작하여 바이러스의 증식 주기가 진행되는 동안에 계속 만들어지며 잠복 감염의 경우에도 IE 항원은 계속 생산된다는 보고가 있다 [21].

본 연구에서의 가설은 바이러스 감염 후 극 초기에 signal pathway를 통한 *c-jun*의 활성화가 있고 이는 바이러스의 증식에 중요한 역할을 하고 그 후에 IE 항원에 의하여 이차적으로 발생하는 *c-jun*의 활성화는 IE 항원이 생산되는 동안에는 계속 진행되어 감염된 세포 (특히 잠복 감염)로 하여금 계속적으로 활성화된 상태를 유지시킨다는 것이다. 따라서 HCMV 감염에 의한 IE의 생산은 곧 세포의 성장, 분화에 관계하는 유전자의 활성화로 이어져 주위 환경의 자극에 의하여 쉽게 세포가 형질변환을 일으키거나 종양이 발생할 수 있다는 것이다.

본 연구에서는 transient transfection 방법을 이용하여 IE 항원이 *c-jun* promoter를 활성화시킬 수 있는지를 알아보았다. 그 결과 3 종류의 IE 항원이 모두 *c-jun* promoter를 활성화시킬 수 있었으며 각 IE 항원을 조합했을 때 IE1과 IE2 사이에

synergism이 있다는 사실을 발견하였다. IE 항원에 의한 23배, 35배의 활성화 증가는 지금까지 알려진 *c-jun* promoter를 활성화시킬 수 있는 어떤 물질보다도 높은 활성화 역가를 보이는 결과이다. 그러나 IE1과 IE2에 의한 synergism은 *c-fos* promoter의 경우에도 관찰되었다 [25,11]. 위의 사실로 HCMV감염 후의 *c-jun* 원형 암유전자의 활성화는 초기의 signal pathway를 통해서 뿐만 아니라 IE 항원에 의해서도 일어난다는 것을 확인하였다.

IE2에 의한 promoter 활성화 기전은 많이 알려져 있는데 *c-fos*, *c-jun*의 경우 TATA-binding protein (TBP) 중 TFIID와 결합하여 활성화에 관여하는 것으로 알려져 있다 [10]. IE1에 의한 promoter 활성화 기전은 잘 알려져 있지 않다. 본 연구에서는 IE1에 의해 *c-jun* promoter가 활성화된다는 결과를 가지고 활성화의 기전을 밝히기 위해 *c-jun* promoter의 deletion mutant를 제작하고 transient transfection assay를 통하여 IE1에 의해 활성화되는 promoter 부위의 전사지도를 작성하였다. 전사지도에 작성하면 활성화에 관계되는 site를 알 수 있고 그 site에 결합하는 transcriptional factor를 알 수 있으며 그 transcriptional factor upstream쪽을 추적해 들어가면 활성화되는 기전을 밝힐 수 있다. 본 연구의 결과 IE1에 의한 *c-jun* promoter 활성화에 관계하는 site는 -225와 -160사이와 -115와 -80사이로 밝혀졌다. -225와 -160사이의 sequence 상에는 현재까지 알려져 있는 functional motif가 없다는 사실이다. 따라서 IE1이 직접 binding하든지 아니면 다른 알려지지 않은 transcriptional factor가 DNA sequence에 부착하고 IE1이 부착된 factor에 작용하여 활성화에 관여하는지는 앞으로 밝혀져야 할 것이다. -115와 -80사이에는 CTF binding site가 있다. 한가지 흥미로운 사실은 pJ8Luc의 luciferase 활성화가 pL7Luc의 그것 보다 더 높다는 것이다. 이 사실은 -160와 -115사이에 IE1과 관계하여 promoter 활성 정도를 repression하는 factor가 존재한다는 사실을 간접적으로 보여주는 결과이다. 즉 IE1에 의한 *c-jun* promoter의 활성화는 IE1에 의한 직접적인 up-regulation과 repression을 down-regulation해서 발생하는 두 가지 기전이 모두 작용한다는 사실을 보여준다.

결 론

사람세포거대바이러스 (HCMV) 감염시 극 초기에 생산되는 immediate early proteins (IEs)는 *c-jun* promoter를 활성화시키고 IE1-72kDa, IE2-86kDa 과 IE2-55kDa은 활성화에 있어서 서로 synergism을 나타낸다. IE1의 *c-jun* promoter 활성화는 *c-jun* promoter sequence 상의 -225와 -160사이와 CTF binding site가 관여하여 발생한다. 이는 IE1에 의한 promoter 활성화의 기전은 IE2에서 보인 바와 같은 basal promoter element와는 다르다는 것을 보여준다.

이상의 결과는 역학적으로 밝혀진 HCMV의 종양 발생 기전을 분자생물학적으로 설명할 수 있는 좋은 모델로서 제시될 수 있다.

감사의 글

이 논문은 "1996년도 서울대학교 의과대학 교육 연구지원"에 의하여 연구되었습.

참 고 문 헌

1. **AbuBakar S, Boldogh I, Albrecht T:** Human cytomegalovirus stimulates arachidonic acid metabolism through pathways that are affected by inhibitors of phospholipase A2 and protein kinase C. *Biochem Biophys Res Commun* **166(2)**: 953-9, 1990.
2. **Albrecht T, Boldogh I, Fons MP:** Activation of proto-oncogenes and cell activation signals in the initiation and progression of human cytomegalovirus infection. p. 384-411, In Becker Y, Darai G (Ed.), *Molecular aspects of human cytomegalovirus diseases*. Springer-Verlag, Berlin, 1993.
3. **Albrecht T, Rapp F:** Malignant transformation of hamster embryo fibroblasts following exposure to ultraviolet-irradiated human cytomegalovirus. *Virology* **55(1)**: 53-61, 1973.
4. **Boldogh I, AbuBakar S, Albrecht T:** Activation of proto-oncogenes: an immediate early event in human cytomegalovirus infection. *Science* **247(4942)**: 561-4, 1990.
5. **Boldogh I, AbuBakar S, Deng CZ, Albrecht T:** Transcriptional activation of cellular oncogenes *fos*, *jun*, and *myc* by human cytomegalovirus. *J Virol* **65(3)**: 1568-71, 1991.
6. **Boldogh I, AbuBakar S, Millinoff D, Deng CZ, Albrecht T:** Cellular oncogene activation by human cytomegalovirus. Lack of correlation with virus infectivity and immediate early gene expression. *Arch Virol* **118**: 163-77, 1991.
7. **Boldogh I, Huang ES, Baskar JF, Gergely L, Albrecht T:** Oncogenic transformation by cellular DNA isolated from human cytomegalovirus-infected cells. *Intervirology* **34(2)**: 62-73, 1992.
8. **Geder KM, Lausch R, O'Neill F, Rapp F:** Oncogenic transformation of human embryo lung cells by human cytomegalovirus. *Science* **192(4244)**: 1134-7, 1976.
9. **Hagemeier C, Caswell R, Hayhurst G, Sinclair J, Kouzarides T:** Functional interaction between the HCMV IE2 transactivator and the retinoblastoma protein. *EMBO J* **13(12)**: 2897-903, 1994.
10. **Hagemeier C, Walker S, Caswell R, Kouzarides T, Sinclair J:** The human cytomegalovirus 80-kilodalton but not the 72-kilodalton immediate-early protein transactivates heterologous promoters in a TATA box-dependent mechanism and interacts directly with TFIID. *J Virol* **66(7)**: 4452-6, 1992.
11. **Hagemeier C, Walker SM, Sissons PJ, Sinclair JH:** The 72K IE1 and 80K IE2 proteins of human cytomegalovirus independently transactivate the *c-fos*, *c-myc* and *hsp70* promoters via basal promoter elements. *J Gen Virol* **73(9)**: 2385-93, 1992.
12. **Han TH, Lamph WW, Prywes R:** Mapping of epidermal growth factor-, serum-, and phorbol ester-responsive sequence elements in the *c-jun* promoter. *Mol Cell Biol* **12(10)**: 4472-7, 1992.
13. **Huang ES, Gutsch D, Tzung KW, Lin CT:** Detection of low level of human papilloma virus type 16 DNA sequences in cancer cell lines derived from two well-differentiated nasopharyngeal cancers. *J Med Virol* **40(3)**: 244-50, 1993.
14. **Lafemina RL, Pizzorno MC, Mosca JD, Hay-**

- ward GS:** Expression of the acidic nuclear immediate-early protein (IE1) of human cytomegalovirus in stable cell lines and its preferential association with metaphase chromosomes. *Virology* **172(2)**: 584-600, 1989.
15. **McDonough SH, Spector DH:** Transcription in human fibroblasts permissively infected by human cytomegalovirus strain AD169. *Virology* **125(1)**: 31-46, 1983.
 16. **Pizzorno MC, Hayward GS:** The IE2 gene products of human cytomegalovirus specifically down-regulate expression from the major immediate-early promoter through a target sequence located near the cap site. *J Virol* **64(12)**: 6154-65, 1990.
 17. **Pizzorno MC, Mullen MA, Chang YN, Hayward GS:** The functionally active IE2 immediate-early regulatory protein of human cytomegalovirus is an 80-kilodalton polypeptide that contains two distinct activator domains and a duplicated nuclear localization signal. *J Virol* **65(7)**: 3839-52, 1991.
 18. **Pizzorno MC, O'Hare P, Sha L, Lafemina RL, Hayward GS:** Trans-activation and autoregulation of gene expression by the immediate-early region 2 gene products of human cytomegalovirus. *J Virol* **62(4)**: 1167-79, 1988.
 19. **Shen CY, Chang SF, Lin HJ, Ho HN, Yeh TS, Yang SL, Huang ES, Wu CW:** Cervical cytomegalovirus infection in prostitutes and in women attending a sexually transmitted disease clinic. *J Med Virol* **43(4)**: 362-6, 1994.
 20. **Shen CY, Ho MS, Chang SF, Yen MS, Ng HT, Huang ES, Wu CW:** High rate of concurrent genital infections with human cytomegalovirus and human papillomaviruses in cervical cancer patients. *J Infect Dis* **168(2)**: 449-52, 1993.
 21. **Sinclair J, Sissons P:** Latent and persistent infections of monocytes and macrophages. *Intervirology* **39(5-6)**: 293-301, 1996.
 22. **Spaete RR, Mocarski ES:** Regulation of cytomegalovirus gene expression: alpha and beta promoters are transactivated by viral functions in permissive human fibroblasts. *J Virol* **56(1)**: 135-43, 1985.
 23. **Speir E, Huang ES, Modali R, Leon MB, Shawl F, Finkel T, Epstein SE:** Interaction of human cytomegalovirus with p53: possible role in coronary restenosis. *Scand J Infect Dis Supp* **199**: 78-81, 1995.
 24. **Speir E, Modali R, Huang ES, Leon MB, Shawl F, Finkel T, Epstein SE:** Potential role of human cytomegalovirus and p53 interaction in coronary restenosis. *Science* **265**: 391-4, 1994.
 25. **Stenberg RM, Fortney J, Barlow SW, Magrane BP, Nelson JA, Ghazal P:** Promoter-specific transactivation and repression by human cytomegalovirus immediate-early proteins involves common and unique protein domains. *J Virol* **64(4)**: 1556-65, 1990.
 26. **Taylor-Wiedeman J, Sissons P, Sinclair J:** Induction of endogenous human cytomegalovirus gene expression after differentiation of monocytes from healthy carriers. *J Virol* **68(3)**: 1597-604, 1994.
 27. **Wathen MW, Stinski MF:** Temporal patterns of human cytomegalovirus transcription: mapping the viral RNAs synthesized at immediate early, early, and late times after infection. *J Virol* **41(2)**: 462-77, 1982.
 28. **Wathen MW, Thomsen DR, Stinski MF:** Temporal regulation of human cytomegalovirus transcription at immediate early and early times after infection. *J Virol* **38(2)**: 446-59, 1981.